

ГЕНЕТИКА ИЗОФЕРМЕНТОВ БЕТА-АМИЛАЗЫ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПРИЗНАКИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

В.П. НЕЦВЕТАЕВ, доктор биологических наук, зав. лабораторией (e-mail: v.netsvetaev@yandex.ru)

Л.С. БОНДАРЕНКО, младший научный сотрудник

Т.А. РЫЖКОВА, кандидат биологических наук, научный сотрудник,

О.В. АКИНШИНА, младший научный сотрудник

Белгородский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, ул. Октябрьская, 58, Белгород, 308001, Российская Федерация

Резюме. В результате анализа F_2 от скрещивания сорта *Pyrotrix* с почти изогенными линиями сорта Новосибирская 67 установлены хромосомы, ответственные за генетический контроль изоферментов бета-амилазы. Разделение бета-амилаз проводили в трис-глициновой системе полиакриламидного геля (рН 8,3). Для идентификации локуса β -АмУ-А1 маркировали хромосому 5AL генетическим фактором *B1b1* (безостость vs. остистость). Для определения локуса β -АмУ-D1 хромосому 4DL маркировали геном *Rht 2*. Бета-амилазы сорта *Pyrotrix* разделяются на три зоны активности, обозначенные в соответствии ростом подвижности символами от А до С и D. Спектр бета-амилаз сорта Новосибирская 67 обеднен и находится в зоне подвижности – В. Сдвоенный компонент А бета-амилазы *Pyrotrix* контролирует локус β -АмУ-А1 на расстоянии $13,70 \pm 3,37$ % рекомбинации от *B1b1* (безостость vs. остистость) хромосомы 5AL. Локус, контролирующий наиболее подвижный сдвоенный компонент D *Pyrotrix*, показал сцепление в $38,89 \pm 4,75$ % рекомбинации с геном *Rht 2*, ответственным за рост растений. Компонент В находится под дигенным контролем и дал величину сцепления бета-амилазного фактора с геном *Rht 2* в $33,40 \pm 10,31$ % рекомбинации. Компонент D сорта *Pyrotrix* находится под контролем локуса β -АмУ-D1, расположенного в хромосоме 4DL. Изучение гомозиготной популяции озимой мягкой пшеницы $F_{224/04} \times$ Одесская красноколосая по вариантам бета-амилазы и агрегирующей способности пептидов зерновки с помощью дисульфидных связей показало, что зимогаммы бета-амилазы образца 24/04 и сорта *Pyrotrix* идентичны. Результаты анализа числа –S-S- связей пяти генотипов пшеницы урожая 2013 г., отличающихся зимотипами бета-амилазы, свидетельствуют, что некоторые из них существенно отличаются от других по величине этого показателя. В целом образцы, сгруппированные по зимотипам изучаемого фермента, составили следующий ряд по агрегирующей способности: $I > B > F > D > G$, или $59,13 \pm 3,18 > 56,65 \pm 2,46 > 52,54 \pm 2,24 > 50,16 \pm 1,67 > 48,63 \pm 6,25$ усл. ед. На урожайность пшеницы значимо влияло присутствие аллеля β -АмУ-A1 Ок. На высоту растений обнаружено положительное влияние аллеля β -АмУ-D1 Рур.

Ключевые слова: мягкая пшеница, -S-S- связи, гомозиготная популяция, изоферменты бета-амилазы, сцепление генов, хромосомный контроль, сорт *Pyrotrix*, количественные признаки.

Для цитирования: Генетика изоферментов бета-амилазы и количественные признаки мягкой пшеницы / В.П. Невцетаев, Л.С. Бондаренко, Т.А. Рыжкова, О.В. Акиншина // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т.30. №12. С. 5-9.

По мнению ряда исследователей [1, 2, 3], изоферменты бета-амилазы контролируют три локуса β -АмУ-А1, β -АмУ-В1, β -АмУ-D1, расположенные, соответственно, в хромосомах 5AL, 4BL, 4DL. В то же время, другие авторы [4, 5] отмечают в качестве критических, в отношении генетического контроля бета-амилазы, хромосомы 4AL, 4BL и 4DL. Причем они указывают, что один из изоферментов контролируют две хромосомы – 4AL и 4BL. При разделении этих энзимов для генетического анализа указанные авторы использовали изоэлектрофокусирование, хотя обычный электрофорез – более экономичный и достаточно эффективный метод проведения массовых анализов. Учитывая, что методика разделения фермента меняет его спектр,

необходим дополнительный генетический анализ для идентификации соответствующих локусов, ответственных за их синтез.

Поскольку бета-амилаза способна агрегироваться с запасными белками зерновки [6, 7] и, учитывая полиморфизм, что может определять отличия разных вариантов фермента в способности связываться с помощью -S-S- связей [8], имелись основания для оценки их по такому свойству. Это важно, так как повышенная способность к агрегации белков благодаря дисульфидным связям приводит к улучшению хлебопекарных свойств зерна [9, 10].

Цель нашей работы – идентификация локусов, контролирующих изоферментный состав бета-амилаз с использованием оценки сцепления их с маркерными генами хромосом 5AL и 4DL мягкой пшеницы, а также проведение генетического анализа изоферментов и оценка влияния выявленных зимотипов фермента на способность к агрегации в белковый комплекс зерна с помощью -S-S- связей.

Условия, материалы и методы. Для идентификации локуса β -АмУ-А1 мы маркировали хромосому 5AL генетическим фактором *B1b1* (безостость vs. остистость). Для идентификации локуса β -АмУ-D1, хромосому 4DL маркировали геном *Rht 2*. На основе оценки сцепления локусов, контролирующих изоферменты бета-амилазы, с маркерными генами устанавливали за какие изоэнзимы электрофоретического спектра ответственны те или иные хромосомы пшеницы. В качестве растительного материала использовали две комбинации F_2 *Pyrotrix* \times АНК-14А и F_2 АНК-12 \times *Pyrotrix*. Родители АНК-12 и АНК-14А – почти изогенные линии сорта Новосибирская 67, несущие, соответственно, рецессивные гены *rht2* (полукарликовость) и *b1* (остистость).

Линии АНК-12 и АНК-14А получены от С.Ф. Коваля (Новосибирск). АНК-12 короткостебельная, что связано с введением в ее геном рецессивного фактора *rht2* от японского сорта Norin 10 [11]. АНК-14А – носитель генов *b1* и *Hd* от сорта Chinese spring [11].

Кроме того, исследовали самоопыляющуюся популяцию озимой мягкой пшеницы $F_{224/04} \times$ Одесская красноколосая (КСИ-77/12) ФГБНУ «Белгородский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Для выявления гетерогенности по ферментам по каждой из семей анализировали не менее 3-х отдельных зерен.

Бета-амилазы выделяли из созревших зерен. Разделение энзимов осуществляли с помощью вертикального электрофореза в пластинах полиакриламидного геля, рН 8,3 [8].

Для определения степени агрегации белкового комплекса с помощью дисульфидных связей использовали подход, изложенный ранее [9, 10]. С этой целью исследовали муку, полученную из зерна семей, выращенных в контрольном питомнике (урожай 2013 г., п. Гонки). Площадь делянок 5 м², без повторности. Посев рядовой. Кроме анализа числа дисульфидных связей в белковом комплексе муки, оценивали урожайность и рост растений по каждой семье.

Учитывая значительную корреляцию ($0,9847 \pm 0,0214$) между числом дисульфидных связей отнесенных и не отнесенных на единицу белка [9, 10], мы использовали величины, не пересчитанные на количество белка в муке.

Таблица 1. **Расщепление по генетическим факторам, контролирующим изоферменты бета-амилазы и остистость колоса в комбинации F₂ Pyrotrix × АНК-14А**

| Символ аллели | Фенотипические классы в F ₂ | | $\chi^2_{3:1}$ | $\chi^2_{15:1}$ |
|---------------|--|----|----------------|-----------------|
| | Y | y | | |
| Y vs. y | | | | |
| A × a | 107 | 25 | 2,59 | 36,28 |
| B × b | 119 | 13 | 16,16 | 2,91 |
| C × c | 119 | 13 | 16,16 | 2,91 |
| D × d | 98 | 34 | 0,04 | 85,73 |
| B1 × b1 | 108 | 24 | 3,27 | 32,07 |

Для генетического анализа использовали критерий χ^2 [12, 13], χ^2_L определяли в соответствии с существующим описанием [12, 14]. Оценку сцепления между генами проводили методом максимального правдоподобия [12, 15], разницы средних – по критерию Стьюдента [13, 16].

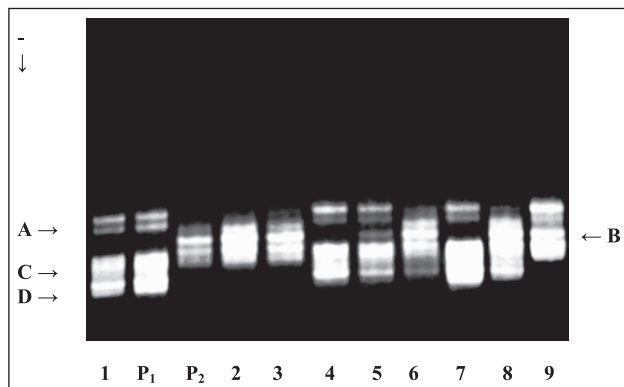


Рис. 1. Зимограммы бета-амилаз озимой мягкой пшеницы: 1-9 - F₂ АНК-12 × Pyrotrix, P₁ – Pyrotrix, P₂ - (rht2), A, B, C, D – символы зон активности фермента.

Результаты и обсуждение. Анализ спектров зимотипов бета-амилаз родителей и расщепляющегося потомства F₂ (рис. 1) показал, что различия в электрофореграммах затрагивают все зоны активности фермента, обозначенные заглавными буквами. Соответственно, по этим энзиматическим зонам наблюдалось расщепление.

Наименее подвижный двоянный компонент фермента, обозначенный символом А, показал моногенный тип наследования. Синтез энзима В контролировали два гена. На зону активности бета-амилазы, обозначенную символом С, также влияли два локуса. Наиболее подвижный двоянный компонент D фермента, судя по расщеплению (табл. 1), контролировал один генетический фактор. Учитывая, что родители отличались по признаку безостость vs. остистость (B1b1), результаты оценки расщепления по этому признаку в F₂ Pyrotrix × АНК-14А подтвердили моногенный тип наследования (см. табл. 1).

Известно, что фактор b1 расположен в длинном плече хромосомы 5А на расстоянии 2,3±2,3 % рекомбинации от локуса β-Amy-A1 [1, 2]. В связи с этим, мы оценили сцепление локусов, контролирующих разные изоферменты бета-амилазы, с геном b1 в F₂ Pyrotrix × АНК-14А. Оказалось (табл. 2), что расщепление по изоэнзиму А и признаку остистость vs. безостость не

подчинялось независимому наследованию соответствующему отношению 9:3:3:1 ($\chi^2_o = 31,38$; $p < 0,01$). Соответственно, $\chi^2_L = 25,52$, что подтверждает эффект сцепления генов. Полученное расщепление продемонстрировало сцепление между локусами, контролирующими вариант энзима А с геном b1 величиной в 13,70±3,37 % рекомбинации. Таким образом, очевидно, этот зимотип контролирует локус β-Amy-A1, расположенный в хромосоме 5АL. Судя по оценке сцепления генетических факторов, ответственных за синтез компонентов в зонах В и С, с геном контролирующим изоэнзим А (см. табл. 2), можно сделать вывод, что один из генов, ответственных за различия в активности в зоне С, аллелен локусу, контролирующему изофермент А.

Изоэнзим D показал независимое наследование по отношению к изоэнзиму А, находящемуся под контролем хромосомы 5АL. Следовательно, за его синтез ответственна другая хромосома. В связи с этим исследовали комбинацию скрещивания F₂ АНК-12 × Pyrotrix, в которой родители отличались по высоте растений, обусловленной геном Rht2. Ген rht2 находится в длинном плече хромосомы 4D на расстоянии 15 ед. от центромеры [17].

Полученные данные подтвердили предположение о том, что различия в активности фермента в зоне А обусловлены аллелями одного гена, а – в зоне В – аллелями по двум локусам. Расщепление по высоте растений отвечало моногенному наследованию (табл. 3), что подтверждает аналогичный тип наследования у изофермента D.

Результаты оценки сцепления локусов, ответственных за синтез бета-амилазы, с геном Rht2 свидетельствуют, что локус β-Amy-A1, ответственный за синтез изоэнзима А, показал независимое наследование с геном Rht2, контролирующим высоту растения. В то же время, изоэнзим D продемонстрировал сцепленное наследование с высотой растений. Расчет оценки сце-

Таблица 2. **Оценка сцепления локусов, контролирующих синтез изоферментов бета-амилазы, и фактора B1b1 в комбинации F₂ Pyrotrix × АНК-14А**

| Символ аллели | Фенотипы в F ₂ | | Фаза | χ^2_L | Процент рекомбинации |
|---------------|---------------------------|-------|------|------------|----------------------|
| | A_ × B_ | B_ bb | | | |
| A-β × B1 | A_ | 100 | 7 | 25,52 | 13,70±3,37 |
| a-β × b1 | aa | 8 | 17 | | |
| A-β × D-β | A_ | 84 | 23 | 3,63 | независимая |
| a-β × d-β | aa | 14 | 11 | | |
| C-β × A-β | A-, X-, -- | 107 | 12 | 72,45 | 0,00±2,51 |
| c-β × a-β | aa, X-, -- | 0 | 13 | | |
| B-β × B1 | A-, X-, -- | 95 | 24 | 4,99 | независимая |
| b-β × b1 | aa, X-, -- | 13 | 0 | | |

пления между геном Rht2 и локусом, контролирующим синтез бета-амилазы в зоне D, соответствовал величине в 38,89±4,75 % рекомбинации. Близкое значение (33,40±10,31 % рекомбинации) отмечено для величины сцепления одного из генов, контролирующих изофер-

Таблица 3. **Расщепление по генетическим факторам, контролирующим изоферменты бета-амилазы и высоту растения (ген Rht2) в комбинации F₂ АНК-12 × Pyrotrix**

| Символ аллели | Фенотипические классы в F ₂ | | $\chi^2_{3:1}$ | $\chi^2_{15:1}$ | $\chi^2_{63:1}$ |
|---------------|--|----|----------------|-----------------|-----------------|
| | Y | y | | | |
| A × a | 140 | 52 | 0,44 | 142,22 | 813,03 |
| B × b | 180 | 12 | 36,00 | 0,00 | 27,43 |
| D × d | 138 | 54 | 1,00 | 156,80 | 880,76 |
| Rht2 × rht2 | 156 | 36 | 4,00 | 51,2 | 368,76 |

Таблица 4. Оценка сцепления локусов, контролирующих синтез изоферментов бета-амилазы, и фактора *Rht2* в комбинации F_2 АНК-12 × Pyrotrix

| Символ аллели | Фенотипы в F_2 | | | Фаза | χ^2_L | Процент рекомбинации |
|-----------------------|----------------------------------|-------|------|------------|------------|----------------------|
| | $\frac{A}{a} \times \frac{B}{b}$ | B_- | bb | | | |
| $A-\beta \times Rht2$ | A_- | 115 | 25 | притяжения | 0,14 | независимая |
| $a-\beta \times rht2$ | aa | 41 | 11 | | | |
| $D-\beta \times Rht2$ | A_- | 118 | 20 | притяжения | 5,49 | 38,89±4,75 |
| $d-\beta \times rht2$ | aa | 38 | 16 | | | |
| $B-\beta \times Rht2$ | $A-C, --$ | 147 | 33 | притяжения | 89,87 | 33,40±10,31 |
| $b-\beta \times rht2$ | $aaC, --$ | 9 | 3 | | | |

мент В с фактором *Rht2*. Следовательно, за синтез изофермента D ответственен локус β -Amy-D1, расположенный в хромосоме 4DL. Альтернативная аллель этого локуса другого родителя, наряду с локусом β -Amy-A1, ответственна за синтез бета-амилазы в зоне В.

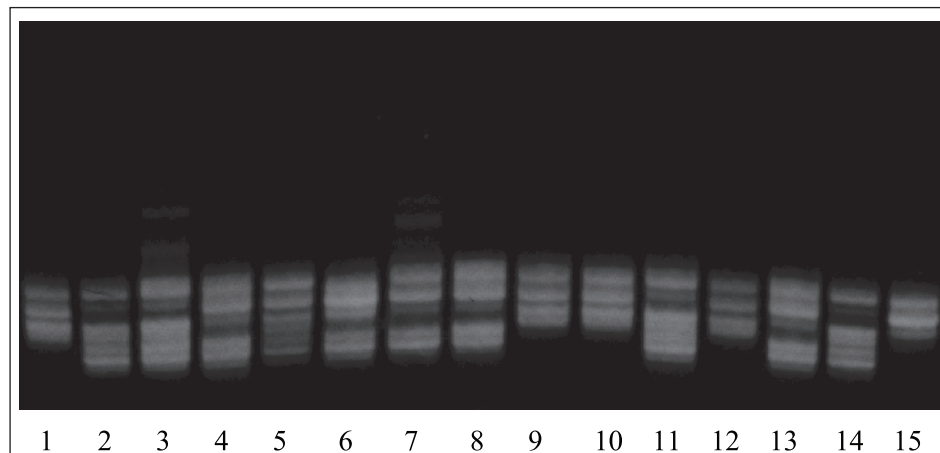


Рис. 2. Расщепление по зимотипам бета-амилазы озимой мягкой пшеницы: 1-13 – в гомозиготной популяции F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая; 14 – линия №24/04; 15 – Одесская красноколосая.

Самоопыляющаяся популяция озимой мягкой пшеницы F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая полиморфна по зимотипам бета-амилазы и представлена гомозиготными генотипами по факторам, контролирующим их синтез (рис. 2). При этом родительские формы сильно отличаются по вариантам указанного фермента. Разнообразие по изоферментному составу отдельных линий в популяции перекрывает отличия между родителями. Гомозиготные популяции хороши тем, что количество фенотипических классов в них значительно меньше, чем в F_2 , в силу отсутствия среди них гетерозигот, что увеличивает информативность выборки. Для анализа наследования, представленные зимотипы группировали по наличию/отсутствию отдельных изоэнзимов фермента (рис. 3). В результате были выделены четыре зоны (А, В, С, D) с бета-амилазной активностью, по которым наблюдали расщепление. При моногенном расщеплении в F_{∞} ожидаемые численности гомозиготных фенотипических классов будут близки соотношению 1 : 1, при дигенном – соотношение доминантного гомозиготного класса к рецессивному будет равно 3 : 1. Если наличие изофермента контролируют три локусами, то численные отношения будут близки к 7 : 1, различие по четырем генетическим факторам даст отношение близкое к 15 : 1.

Результаты оценки расщепления по изученным изоферментам бета-амилазы (табл. 5) показывают, что наиболее подвижный сдвоенный изоэнзим D наследуется по моногенному типу ($\chi^2_{1;1} = 0,06$; $P > 0,75$). То же самое

В¹, В² и В³. В то же время наименее подвижный изоэнзим А, судя по встречаемости в изучаемой популяции, контролируют четыре локуса ($\chi^2_{15;1} = 0,01$; $P > 0,90$).

Судя по оценкам встречаемости обнаруженных фенотипов по изоферментам С и D в популяции F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая, генетические факторы, обуславливающие их синтез, наследуются независимо (табл. 6).

Таким образом, бета-амилазу В контролируют аллели трех локусов β -Amy-A1, β -Amy-B1, β -Amy-D1, продукты которых идентичны по электрофоретической подвижности. Энзимная активность в зоне А обусловлена этими тремя локусами и, судя по расщеплению, еще одним.

В соответствии с изоэнзимным составом бета-амилаз в популяции F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая было выделено пять зимотипов (см. рис. 2-3, табл. 7). Зимотип I, не представленный на рис. 3, похож на тип G, но дополнительно имеет ферментативную активность в зоне компонента В.

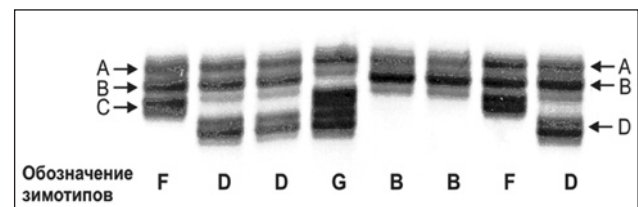


Рис. 3. Некоторые зимотипы бета-амилазы отдельных зерен озимой мягкой пшеницы самоопыляющейся популяции F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая. Буквы напротив стрелок обозначают изоферменты, по которым наблюдалось наследование.

Таблица 5. Расщепление по изоферментам бета-амилазы в F_{∞} 24/04 × Одесская красноколосая

| Символы изоферментов | Фенотипические классы в F_{∞} | | Ожидаемое | χ^2 | P |
|----------------------|--------------------------------------|----|-----------|----------|-------|
| | XX | xx | | | |
| D | 79 | 76 | 1 : 1 | 0,06 | >0,75 |
| | | | 3 : 1 | 47,75 | <0,01 |
| C | 67 | 88 | 1 : 1 | 2,84 | >0,05 |
| | | | 3 : 1 | 83,47 | <0,01 |
| B | 138 | 17 | 3 : 1 | 16,28 | <0,01 |
| | | | 7 : 1 | 0,34 | >0,50 |
| A | 145 | 10 | 3 : 1 | 28,44 | <0,01 |
| | | | 7 : 1 | 5,18 | <0,05 |
| | | | 15 : 1 | 0,01 | >0,90 |

Таблица 6. Оценка сцепления локусов, контролирующих синтез изотипов С и D бета-амилазы пшеницы в F₂ 24/04 × Одесская красноколосая

| Символ аллели | Фенотипические классы в F ₂ | | n | χ^2_L | Рекомбинация |
|--------------------|--|-------|-------|------------|--------------|
| | A × B a × b | BB bb | | | |
| DD × CC dd × cc | AA aa | 28 39 | 51 37 | 155 4,03 | Независимая |

Как видно по числу дисульфидных связей (см. табл. 7), ранжировку групп линий, разделенных по зимотипам бета-амилаз, можно представить следующим рядом: I>B>F>D>G, или 59,13±3,18 > 56,65±2,46 > 52,54±2,24 > 50,16±1,67 > 48,63±6,25 усл. ед.

Таблица 7. Число дисульфидных связей белкового комплекса, урожайность зерна и высота растений мягкой пшеницы (популяция F₂ 24/04 × Одесская красноколосая) в генотипах сестринских линий, несущих разные варианты бета-амилазы (2013 г., п. Гонки)

| Символ зимотипа | Аллель локуса ¹ | | | Выборка | Число дисульфидных связей, усл. ед. | Урожайность, ц/га | Высота растений, см |
|-----------------|----------------------------|----------|----------|---------|-------------------------------------|-------------------|---------------------|
| | β-Аму-А1 | β-Аму-В1 | β-Аму-Д1 | | | | |
| B | Ok | Ok | Ok | 12 | 56,65±2,46 | 35,57±1,82 | 81,25±1,86 |
| G | Pyr | Pyr | Pyr | 4 | 48,63±6,25 | 31,55±1,75 | 81,25±2,39 |
| F | Ok | Pyr | Ok | 18 | 52,54±2,24 | 38,69±1,51 | 77,50±1,82 |
| D | Ok | Ok | Pyr | 15 | 50,16±1,67 | 38,06±1,69 | 79,67±1,50 |
| I | Ok | Pyr | Pyr | 6 | 59,13±3,18 | 35,82±3,22 | 73,33±3,07 |

¹ Ok – аллели сорта Одесская красноколосая, Pyr – аллели сорта Pyrotrix

В этом ряду существенные различия по числу дисульфидных связей обнаружены между группами В и D, а также D и I (табл. 8). Следует отметить, что на проявление этого количественного признака сильно влияют метеорологические условия года. Так, ранее установлено [18], что наиболее значимые различия по степени агрегации белков с помощью дисульфидных связей проявляются при температурных показателях и обеспеченности влагой в вегетационный период близких к среднемуголетним величинам для Белгородской области. Высокие температуры и дефицит влаги в период налива и созревания зерна способствуют увеличению агрегации белков и нивелируют различия по этому признаку между образцами. Результаты, полученные при анализе зерна урожая 2013 г. (см. табл. 7, 8), свидетельствуют о влиянии генотипических особенностей пшеницы по факторам, контролирующим изоферментный состав бета-амилаз, на способность к агрегации этого фермента в белковый комплекс эндосперма с помощью межмолекулярных дисульфидных связей.

Несмотря на выявленные различия в формировании -S-S- связей между группами генотипов, различия между изоэнзимами, контролируемые аллелями отдельных локусов, по этому признаку находились в пределах ошибки опыта. Так, количество -S-S- связей в образцах, имеющих изоэнзим, обусловленный аллелью

Таблица 8. Значения t между группами линий с разными вариантами бета-амилазы по количественным признакам (числитель – число дисульфидных связей, знаменатель – урожайность)

| Группа с вариантами бета-амилаз | B | D | F |
|---------------------------------|------------|------------|------------|
| D | 2,19*/1,14 | | |
| F | 1,23/1,32 | 0,85/0,28 | |
| G | 1,19/1,59 | 0,24/2,68* | 0,59/3,09* |
| I | 0,62/0,07 | 2,5*/0,93 | 1,69/0,78 |

* – различия значимы при уровне P > 0,95.

Ok локуса β-Аму-А1, составляло 53,58±2,23 усл. ед., а в вариантах с аллелью Pyr этого локуса оно было равно 48,63±6,25 усл. ед. (t = 0,75; P < 0,09). Соответственно, величины агрегации изоэнзимов Ok и Pyr локуса β-Аму-В1 имели значения 53,04±2,02 и 53,39±3,01 усл. ед. (t = 0,09; P < 0,09). Изоэнзимы Ok и Pyr локуса β-Аму-Д1 обусловили агрегацию белков на уровне 54,18±2,32 и 52,07±2,77 усл. ед. (t = 0,58; P < 0,09).

Следует отметить, что по урожайности группы линий, сформированные на основе зимотипов бета-амилаз, можно расположить в следующий ряд: F>D>I>B>G (см. табл. 7). Между некоторыми группами генотипов различия по урожайности были достоверны (см. табл. 8). Оценка влияния аллелей (или тесно сцепленных генов), контролирующих изоэнзимы бета-амилазы, на урожайность

озимой мягкой пшеницы показала, что аллель Ok локуса β-Аму-А1 обуславливает больший сбор зерна, чем альтернативный фактор Pyr. Так, урожайность генотипов, несущих аллель β-Аму-А1 Ok составила 37,43±1,84 ц/га, а у носителей аллели β-Аму-А1 Pyr она была равна 31,55±1,75 ц/га (t = 2,33*; P > 0,95). Урожайности носителей аллелей Ok и Pyr остальных локусов β-Аму-В1

и β-Аму-Д1 находились на одном уровне.

Различия между выделенными группами линий по высоте растений (см. табл. 7) в целом оставались в пределах ошибки опыта, за исключением групп I и B (t = 2,21*; P > 0,95). В последнем случае генотипы, несущие зимотип I, отличались достоверно более низким ростом. Оценка связи амилолитических ферментов с формированием высоты растений показала, что этот признак сопряжен с аллелями локуса β-Аму-Д1. Так, высота носителей аллели β-Аму-Д1 Ok составляла 70,00±1,84 см, а у носителей аллели β-Аму-Д1 Pyr она была равна 78,40±2,02 см (t = 3,07*; P > 0,99). Различия по высоте, обусловленные аллелями остальных локусов, находились в пределах ошибки опыта.

Коэффициент корреляции между высотой растений и числом -S-S- связей был значим (r = +0,29**, n = 62, P > 0,99). В связи с этим, засушивают внимания высокие показатели количества дисульфидных связей в группе I, растения которой были наиболее низкорослыми. В то же время коэффициенты корреляции между урожайностью и числом -S-S- связей, а также высотой растений были незначительны и составляли, соответственно, r₁ = -0,05 (n = 62) и r₂ = 0,09 (n = 62).

Выводы. При проведении электрофореза в триглицериновой системе полиакриламидного геля с pH 8,3 спектр бета-амилазы пшеницы сорта Pyrotrix разделяется на три зоны активности, обозначенные в соответствии с ростом подвижности символами А, С и D. Спектр бета-амилаз сорта Новосибирская 67 обеднен и занимает промежуточную зону подвижности – В. Сдвоенный компонент А бета-амилазы сорта Pyrotrix контролирует локус β-Аму-А1, расположенный на расстоянии 13,70±3,37 % рекомбинации от факторов В1b1 (безостость vs. остистость) хромосомы 5AL. Локус, контролирующий наиболее подвижный сдвоенный компонент D этого сорта, показал сцепление величиной в 38,89±4,75 % рекомбинации с геном Rht 2, ответственным за рост растений пшеницы, следовательно, он находится под контролем

локуса β -Amy-D1, расположенного в хромосоме 4DL. Генетический анализ компонента В сорта Новосибирская 67, находящегося под дигенным контролем, дал близкую величину сцепления бета-амилазного фактора с геном Rht 2 на уровне $33,40 \pm 10,31$ % рекомбинации.

Исследование гомозиготной самоопыляющейся популяции озимой мягкой пшеницы F $\rightarrow\infty$ 24/04 \times Одесская красноколосая показало, что образец 24/04 имеет зимотип, характерный для сорта Pyrotrix. У второго родителя сдвоенный компонент накладывается на компонент А и заполняет зону В. Компонент В сорта Одесская красноколосая контролируют три доминантных фактора, за компонент А ответственные четыре локуса. Результаты анализа числа -S-S- связей в зерне пяти генотипов пшеницы урожая 2013 г., отличающихся зимотипами бета-амилазы, свидетельствуют, что некоторые

из них существенно отличаются от других по величине этого показателя. В целом образцы, сгруппированные по зимотипам этого фермента, составили следующий ряд по агрегирующей способности: I>B>F>D>G, или $59,13 \pm 3,18 > 56,65 \pm 2,46 > 52,54 \pm 2,24 > 50,16 \pm 1,67 > 48,63 \pm 6,25$ усл. ед. Следовательно, генотипы, имеющие зимотипы I и В, способны оказывать положительное влияние на реологические свойства теста из их муки. Различия в формировании дисульфидных связей альтернативных вариантов изоэнзимов по отдельным локусам β -Amy-A1, β -Amy-D1 и β -Amy-B1 находились в пределах ошибок опыта. На урожайность зерна пшеницы значимо влияло присутствие аллеля β -Amy-A1 Ok. На высоту растений обнаружено положительное влияние аллеля β -Amy-D1 Pyr. Установлена положительная связь между высотой растений и числом -S-S- связей.

Литература.

1. Ainsworth C.C., Gale M.D., Baird S. The genetics of beta-amylase isozymes in wheat. Allelic variation among hexaploid varieties and intrachromosomal gene locations // *Theoretical and Applied Genetics*. 1983. V. 66. Pp. 39–49.
2. Catalogue of gene symbols for wheat / R.A. McIntosh, G.E. Hart, K.M. Devos, M.D. Gale, W.J. Rogers // *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium, Saskatchewan, Canada*, 1998. V. 5. Pp. 88, 155–156.
3. Sharp P.J., Desai S., Gale M.D. Isozyme variation and RFLPs at the beta-amylase loci in wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. 1988. V. 76. Pp. 691–699.
4. Рыбалка А.И., Созинов А.А. Генетический анализ β -амилазы зерна пшеницы // *Генетика*. 1980. Т. 16. № 6. С. 1059–1067.
5. Рыбалка О.И. Якість пшениці та її поліпшення. Київ: Логос, 2011. С. 234–240.
6. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins / M.C. Gianibelli, O.R. Larroque, F. MacRitchie, C.W. Wrigley // *Publication. no. C-2001-0926-01O*. www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf (дата обращения: 15.01.2014).
7. Gupta R.B., Shepherd K.W., MacRitchie F. Genetic control and biochemical properties of some high molecular weight albumins in bread wheat // *Journal of Cereal Science*. 1991. V. 13. Is. 3. Pp. 221–235.
8. Полиморфизм по бета-амилазе зерна озимой мягкой пшеницы / В.П. Нецветов, О.В. Акиншина, О.С. Бондаренко, И.П. Моторина // *Генетика*. 2012. Т. 48. №2. С. 168–174.
9. Методы седиментации и оценка качества клейковины мягкой пшеницы / В.П. Нецветов, О.В. Лютенко, Л.С. Пашенко, И.И. Попкова // *Научные ведомости БелГУ. Серия. Естественные науки*. 2009. №11(66). Вып. 9/1. С. 56–64.
10. Оценка качества зерна мягкой пшеницы SDS-седиментацией / В.П. Нецветов, О.В. Лютенко, Л.С. Пашенко, И.И. Попкова // *Сельскохозяйственная биология*. 2010. № 3. С. 63–70.
11. Коваль С.Ф., Коваль В.С., Шаманин В.П. Изогенные линии пшеницы: монография. Омск: Омскбланкиздат, 2001. 152 с.
12. Нецветов В.П. Руководство по генетическому анализу растений: учеб.-метод. пособие. Белгород: БелГУ, 2008. 35 с.
13. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: Высшая школа, 1974. С. 7–442.
14. Persson G. An attempt to find suitable genetic markers for dense ear loci in barley. I. // *Hereditas*. 1969. V. 62. Pp. 25–96.
15. Allard R.W. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity // *Hilgardia*. 1956. V. 24. No. 10. Pp. 235–278.
16. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Высшая школа, 1973. С. 5–319.
17. The intra-chromosomal mapping of the Norin 10 and Tom Thumb dwarfing genes / J.A. McVittie, M.D. Gale, G.A. Marshall, B. Westcott // *Heredity*. 1978. V. 40. Pp. 67–70.
18. Новые подходы к оценке качества зерна озимой мягкой пшеницы / В.П. Нецветов, О.В. Лютенко, Л.С. Пашенко, И.И. Попкова // *Белгородский Агромир*. 2010. №1 (54). С. 27–29.

GENETICS OF BETA-AMYLASE ISOZYMES AND QUANTITATIVE ATTRIBUTES OF SOFT WHEAT

V.P. Netsvetaev, L.S. Bondarenko, T.A. Ryzhkova, O.V. Akinshina

Belgorod Research Institute of Agriculture, ul. Oktyabr'skaya, 58, Belgorod, 308001, Russian Federation

Summary. The chromosomes, responsible for the genetic control of isozymes of beta-amylase, were determined as a consequence of the analysis of the generation F2 from the crossing of Pyrotrix variety with near isogenic lines of Novosibirskaya 67 variety. Separation of the beta-amylases was performed in Tris-glycine polyacrylamide gel system (pH 8.3). The chromosome 5AL was marked by B1b1 genetic factor (awnlessness vs. beardedness) to identify β -Amy-A1 locus. To determine β -Amy-D1 locus the chromosome 4DL was marked by Rht 2 gene. Beta-amylase of Pyrotrix variety were separated into three areas of activity, denoted by symbols from A to C and D in accordance with the increase in their mobility. The spectrum of beta-amylases of Novosibirskaya 67 was poor and was in the mobility zone B. The dual component A of beta-amylase of Pyrotrix is controlled by β -Amy-A1 locus, at a distance of (13.70 ± 3.37) % of recombination from B1b1 (awnlessness vs. beardedness) of 5AL chromosome. The locus, controlling the most mobile dual component D of Pyrotrix, showed linkage of (38.89 ± 4.75) % of recombination with Rht 2 gene, responsible for the growth of plants. Component B was under the digenic control and showed a value of linkage of beta-amylase factor with Rht 2 gene of (33.40 ± 10.31) % of recombination. Component D of Pyrotrix variety is controlled by β -Amy-D1 locus, located on chromosome 4DL. The investigation of homozygous population F $\rightarrow\infty$ 24/04 X of winter soft wheat Odesskaya Krasnokolosaya according to the variants of beta-amylase and aggregating ability of kernel peptides with the help of disulfide bonds showed, that zymograms of beta-amylase of 24/04 sample and Pyrotrix variety are identical. Analysis of a number of -S-S- bonds of five wheat genotypes in 2013, differing by zymotypes of beta-amylase showed that some of them are quite different from the others by the value of this indicator. In general, the samples, grouped by zymotypes of this enzyme, formed the following row according to the aggregation ability: I > B > F > D > G or $59,13 \pm 3,18 > 56,65 \pm 2,46 > 52,54 \pm 2,24 > 50,16 \pm 1,67 > 48,63 \pm 6,25$ su. The yield of wheat was significantly affected by the presence of β -Amy-A1 Ok allele. The height of plants was positively influenced by β -Amy-D1 Pyr allele.

Keywords: soft wheat, -S-S- bonds, homozygous population, β -amylase isozymes, linkage of genes, chromosome control, Pyrotrix variety, quantitative attributes.

Author Details: V.P. Netsvetaev, D.Sc. (Biol.), head of laboratory (e-mail: v.netsvetaev@yandex.ru); L.S. Bondarenko, junior research fellow; T.A. Ryzhkova, Cand. Sc. (Biol.), research fellow; O.V. Akinshina, junior research fellow.

For citation: Netsvetaev V.P., Bondarenko L.S., Ryzhkova T.A., Akinshina O.V. Genetics of Beta-Amylase Isozymes and Quantitative Attributes of Soft Wheat. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2016. V.30. No. 12. Pp. 5-9 (in Russ.).